

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2005 年 6 月 23 日 (23.06.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/055725 A1(51) 国際特許分類⁷: A01N 65/00, A23L 1/068, 2/02, 3/3472

1048402 東京都中央区築地六丁目 1 9 番 2 0 号 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2004/018482

(22) 国際出願日: 2004 年 12 月 10 日 (10.12.2004)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2003-415127
2003 年 12 月 12 日 (12.12.2003) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社ニチレイ (NICHIREI CORPORATION) [JP/JP]; 〒

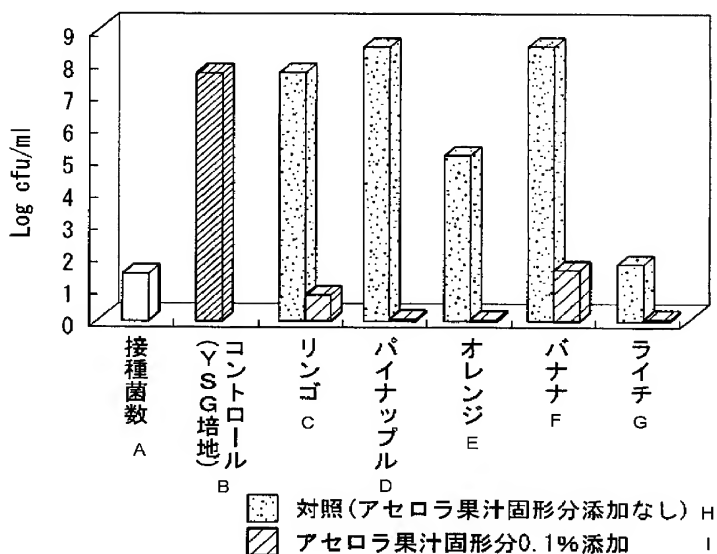
(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 棚田 正三 (TANADA, Shozo) [JP/JP]; 〒2618545 千葉県千葉市美浜区新港 9 番地 株式会社ニチレイ 加工食品カンパニー 研究開発部内 Chiba (JP). 田島 理恵 (TAJIMA, Rie) [JP/JP]; 〒2618545 千葉県千葉市美浜区新港 9 番地 株式会社ニチレイ 加工食品カンパニー 研究開発部内 Chiba (JP). 小泉 雄史 (KOIZUMI, Takeshi) [JP/JP]; 〒2618545 千葉県千葉市美浜区新港 9 番地 株式会社ニチレイ 加工食品カンパニー 研究開発部内 Chiba (JP). 山本 敏 (YAMAMOTO, Satoshi) [JP/JP]; 〒2618545 千葉県千葉市美浜区新港 9 番地 株式会社ニチレイ 加工食品カンパニー 研究開発部内 Chiba (JP). 青木 仁史 (AOKI, Hitoshi) [JP/JP]; 〒2618545 千

[続葉有]

(54) Title: BACTERIAL GROWTH INHIBITOR OR BACTERIOSTATIC AGENT UTILIZING SUBSTANCE DERIVED FROM ACEROLA FRUIT

(54) 発明の名称: アセロラ果実由来物質を用いた細菌増殖抑制又は阻止剤



A... NO. OF INOCULATION BACTERIA
 B... CONTROL (YSG CULTURE MEDIUM)
 C... APPLE
 D... PINEAPPLE
 E... ORANGE
 F... BANANA
 G... LITCHI
 H... REFERENCE (ACEROLA FRUIT SOLID CONTENTS NOT ADDED)
 I... ACEROLA FRUIT SOLID CONTENTS 0.1% ADDED

(57) Abstract: A bacterial growth inhibitor or bacteriostatic agent for simultaneously thermophilic and acidophilic bacteria (TAB: ThermoAcidophilic Bacilli), such as bacteria belonging to the genus Alicyclobacillus, especially guaiacol formation capability having Alicyclobacillus acidoterrestris, Alicyclobacillus acidiphilus and Alicyclobacillus herbarius, which bacterial growth inhibitor or bacteriostatic agent is derived from natural products and is facile in procurement, preparation and handling. There is provided a bacterial growth inhibitor or bacteriostatic agent for bacteria belonging to the genus Alicyclobacillus, which comprises acerola fruit juice as an effective ingredient.

(57) 要約: 本発明は、好熱性と好酸性を併せ持つ細菌 (TAB: Thermo Acidophilic Bacilli)、中でもアリシクロバチルス (Alicyclobacillus) 属細菌、特に、グアイヤコール産生能を有する、アリシクロバチルス・アシドテレストリス (Alicyclobacillus acidoterrestris)、アリシクロバチルス・アシディフィラス (Alicyclobacillus acidiphilus)、アリシクロバチルス・ハーバリウス (Alicyclobacillus herbarius) の細菌増殖抑制又は阻止剤であって、天然物由来であり、その入手・調製・操作が容易である細菌増殖抑制又は阻止剤を提供することを目的とする。本発明は、アセロラ果汁を有効成分とするアリシクロバチルス (Alicyclobacillus) 属細菌の細菌増殖抑制又は阻止剤を提供する。

WO 2005/055725 A1



千葉県千葉市美浜区新港 9 番地 株式会社ニチレイ 加工食品カンパニー 研究開発部内 Chiba (JP). 花村 高行 (HANAMURA, Takayuki) [JP/JP]; 〒2618545 千葉県千葉市美浜区新港 9 番地 株式会社ニチレイ 加工食品カンパニー 研究開発部内 Chiba (JP). 間山 千郷 (MAYAMA, Chisato) [JP/JP]; 〒2618545 千葉県千葉市美浜区新港 9 番地 株式会社ニチレイ 加工食品カンパニー 研究開発部内 Chiba (JP).

(74) 代理人: 志賀 正武, 外 (SHIGA, Masatake et al.); 〒1048453 東京都中央区八重洲 2 丁目 3 番 1 号 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA,

NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 *PCT* ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

アセロラ果実由来物質を用いた細菌増殖抑制又は阻止剤

技術分野

[0001] 本発明は、天然物由来の細菌増殖抑制又は阻止剤に関する。

背景技術

[0002] 従来より、耐熱性と耐酸性とを併せ持つ細菌 (TAB: Thermo Acidophillic Bacilli) として、アリシクロバチルス (Alicyclobacillus) 属の細菌が知られている。また、アリシクロバチルス属の細菌の胞子は、果汁等の一般的な低温殺菌法に対して耐性を示すことも知られている。

特に、アリシクロバチルス属に属するアリシクロバチルス・アシドテレストリス (Alicyclobacillus acidoterrestris)、アリシクロバチラス・アシディフィラス (Alycyclobacillus acidiphilus)、及びアリシクロバチラス・ハーバリウス (Alicyclobacillus herbarius) は、それ自体、人体に有害な細菌ではないとされるものの、食品や食品添加物に含まれるバニリン等を代謝することにより、グアイアコールという異臭 (薬品臭) 物質を産生する。しかも、非常に少量の細菌により、人間が感じるほどの異臭を放つ。このため、アリシクロバチルス・アシドテレストリスは、食品の品質を劣化させる原因として、近年では、飲料メーカーを中心に問題となっている。果汁及び果汁飲料中でこの細菌の増殖を抑制・阻止するには、安息香酸等の合成保存料が有効である。

しかしながら、細菌の増殖を抑制・阻止するための物質としては、低濃度で効果を発揮する天然物由来のものに対する要望が需要者において存在している。

[0003] このような要望にこたえるものとしては既に幾つかの例がある。例えば果汁及び果汁飲料の保存等の場合には、アリシクロバチルス・アシドテレストリスの増殖を抑制又は阻止する天然物由来の物質として、乳酸菌由来のペプチドであるナisin (非特許文献1)、麦類由来のアルファ型チオニン及びベータ型チオニン (特許文献1)、デンプン或いはデンプン分解物由来の1, 5-D-アンヒドロフルクトース (特許文献2)、クランベリー由来の活性濃縮物 (特許文献3)、ブドウ由来のポリフェノール (非特許文献2) が報告されている。

特許文献1:特開2002-37705号公報

特許文献2:特開2002-17319号公報

特許文献3:特表2001-516565号公報

非特許文献1:International Journal of Food Science and Technology 1999, 34, 81-85

非特許文献2:Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi Vol. 49, No. 8, 555-558 (2002)

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0004] しかしながら、上記の物質をアリシクロバチルス・アシドテレストリスの増殖を抑制又は阻止する天然物由来の物質として用いるには、それぞれ個々の問題がある。

即ち、ナイシンはデヒドロアラニン等の特殊なアミノ酸を含んでおり、現在、日本では食品添加物として認められていない。

また、ナイシン以外の物質の場合には、その調製方法が煩雑であるという問題点がある。即ち、アルファ型チオニン及びベータ型チオニンは、約45個のアミノ酸からなる成分であるが、これは大麦、小麦、燕麦、ライ麦などの麦類の穀粉からの抽出を必要とする。1, 5-D-アンヒドロフルクトースは、微生物或いは紅藻等の植物組織由来の酵素の作用を利用して、デンプン或いはデンプン分解物から調製することが必要である。クランベリー由来の物質は、クランベリーの果実などを適切な結合性マトリックスで処理することが必要である。そしてブドウ由来のポリフェノールは「巨峰」種子より熱水抽出後、セファデックス吸着画分として調製することが必要である。これら4種の物質(若しくは抽出物)は、天然由来の抗菌性物質であるが、上述したようにその調製や操作があまりに煩雑であるため、アリシクロバチルス・アシドテレストリスの増殖を抑制又は阻止する物質としては、未だ実用化には至っていない。

[0005] そこで、本発明の課題は、アリシクロバチルス(*Alicyclobacillus*)属細菌、特に、グアイヤコール産生能を有する、アリシクロバチルス・アシドテレストリス(*Alicyclobacillus acidoterrestris*)、アリシクロバチラス・アシディフィラス(*Alycyclobacillus acidiphilus*)、及びアリシクロバチラス・ハーバリウス(*Alicyclobacillus herbarius*)の細菌増殖抑制又は阻止剤であって、天然物由来のものであり、尚且つその入手・調製・操作が容易で

ある細菌増殖抑制又は阻止剤を提供することである。

課題を解決するための手段

- [0006] 本発明者は、上記課題を解決すべく、鋭意検討した結果、アセロラの果実由来の果汁等には、アリシクロバチルス属細菌の増殖を抑制又は阻止能があることを見出し、本発明を完成した。
- [0007] 即ち、本発明の第1の発明は、アセロラ (*Malpighia emerginata* DC.) の果実から得られるピューレ又は果汁を有効成分として含む、好熱性好酸性細菌 (TAB) の細菌増殖抑制又は阻止剤である。
- [0008] 本発明の第2の発明は、前記アセロラの果実から得られるピューレ又は果汁を乾燥させたものを有効成分として含む、第1の発明に記載の好熱性好酸性細菌 (TAB) の細菌増殖抑制又は阻止剤である。
- [0009] 本発明の第3の発明は、前記アセロラの果実から得られるピューレ又は果汁が、脱糖処理にかけられたものである、第1又は第2の発明に記載の好熱性好酸性細菌 (TAB) の細菌増殖抑制又は阻止剤である。
- [0010] 本発明の第4の発明は、前記好熱性好酸性細菌 (TAB) が、アリシクロバチルス (*Alicyclobacillus*) 属細菌である、第1乃至第3の何れか一つに記載の細菌増殖抑制又は阻止剤である。
- [0011] 本発明の第5の発明は、前記アリシクロバチルス属細菌がアリシクロバチルス・アシドテレストリス (*Alicyclobacillus acidoterrestris*)、アリシクロバチラス・アシディフィラス (*Alycyclobacillus acidiphilus*)、又はアリシクロバチラス・ハーバリウス (*Alicyclobacillus herbarius*) である、第4の発明に記載の細菌増殖抑制又は阻止剤である。
- [0012] 本発明の第6の発明は、飲食品添加用である第1乃至第5の発明の何れか一つに記載の細菌増殖抑制又は阻止剤である。
- [0013] 本発明の第7の発明は、第6の発明に記載の細菌増殖抑制又は阻止剤を含む飲食品である。
- [0014] 本発明の第8の発明は、アセロラの果実から得られるピューレ又は果汁、これらの脱糖処理物、又はこれらの乾燥物の、細菌増殖抑制又は阻止のための使用である。
- [0015] 本発明の第9の発明は、第6の発明に記載の細菌増殖抑制又は阻止剤を添加する

工程を含む、飲食品の製造方法である。

- [0016] 本発明の第10の発明は、第6の発明に記載の細菌増殖抑制又は阻止剤を飲食品に添加する工程を含む、飲食品における細菌増殖の抑制又は阻止方法である。

発明の効果

- [0017] 本発明に係る、アセロラ果実由来の果汁等を用いた細菌増殖抑制又は阻止剤は、天然物由来である。また、好熱性好酸性菌(TAB)の増殖抑制又は阻止に優れた効果を有する。更には、その調製にあたって特別な装置や操作が殆んど必要ないので、製造性・コストの点においても有利である。

図面の簡単な説明

- [0018] [図1]アセロラ果汁の細菌の増殖抑制又は阻止能を示すグラフである。
[図2]アリシクロバシラス・アシドカルダリウスに対する、アセロラ果汁の細菌の増殖抑制又は阻止能を示すグラフである。
[図3]アリシクロバシラス・シクロヘプタニカス、アセロラ果汁の細菌の増殖抑制又は阻止能を示すグラフである。
[図4]アリシクロバシラス・ハーバリウス、アセロラ果汁の細菌の増殖抑制又は阻止能を示すグラフである。
[図5]アリシクロバシラス・ヘスペリダム、アセロラ果汁の細菌の増殖抑制又は阻止能を示すグラフである。
[図6]アリシクロバシラス・アシディフィラス、アセロラ果汁の細菌の増殖抑制又は阻止能を示すグラフである。
[図7]アセロラ果汁固形分の細菌増殖抑制又は阻止能を示すグラフである。
[図8]リンゴ果汁中でのアセロラ果汁固形分の細菌増殖抑制又は阻止能を示すグラフである。
[図9]各種の果汁中でのアセロラ果汁固形分の細菌増殖抑制又は阻止能を示すグラフである。
[図10]脱糖処理済のアセロラ果汁の固形分の細菌増殖抑制又は阻止能を示すグラフである。

発明を実施するための最良の形態

- [0019] 本発明において用いるアセロラは、熱帯アメリカを原産とするキントラノオ科、マルピギア属の植物であり、別名、バルバドス・チェリー、ウェスト・インディアン・チェリーとも呼ばれるものである。本発明で用いるアセロラの品種には、特に限定はなく、例えば東南アジア産及びブラジル産のアセロラの果実を好適に用いることができる。また、アセロラの学名は、*Malpighia emarginata* DC.であるが、プエルトリコ産のものを、*M. punicifolia* L.とし、キューバ、フロリダ、中央アメリカ産のものを*M. glabra* L.として扱うことがある、しかし、現在、これら2学名は異名(シノニム)とされている。従って、本発明において利用するアセロラはこれらの学名の一方に限定されるものではない。
- [0020] 本発明の細菌増殖抑制又は阻止剤に用いる「アセロラの果実から得られるピューレ及び果汁」は、アセロラ果実を原料とし、一般的なピューレ・果汁の調製法によって調製することができる。例えば、ピューレはアセロラ果実の可食部を晒し等の布や、裏ごし器で直接搾汁、又は裏ごしして得ることができる。また、アセロラ果実の種子を除いた可食部を粉碎して得ることもできる。果汁は、ピューレを原料とし、遠心分離等の精製処理を施すことにより得ることができる。或いは、搾汁機を用いて機械的に搾汁することもできる。このようにして得られたピューレ及び果汁には、不溶解物が含有されていてもよいし、必要に応じてペクチナーゼなどの酵素処理や限外ろ過等の清澄工程を施しても良い。これらの調製物は、適宜、濃縮又は希釈によりその濃度を変えて使用しても構わない。
- [0021] 本発明の細菌増殖抑制又は阻止剤に用いる、「アセロラ果実から得られるピューレ又は果汁を乾燥させたもの」は、上記のように調製したピューレ又は果汁を、適宜、凍結乾燥、噴霧乾燥、ドラムドライ等することにより、固形分としたものである。
- [0022] 本発明においては、上記のアセロラの果実から得られるピューレ、又は果汁を脱糖処理にかけたものを利用することができる。脱糖処理の方法としては、アセロラの果実から得られるピューレ又は果汁を適切な濃度になるまで濃縮又は希釈し、これを酵母等の微生物で発酵させ、発酵後遠心分離などにより、微生物を含む固形分と上清とに分け、そのうちの上清を適宜、凍結乾燥等にかけて粉末化する方法を挙げることができる。発酵の条件は、発酵にかかるピューレ・果汁の性質や状態、使用する微生物の種類などを考慮し、当業者らが適切に設定できるものである。好ましくは、ピューレ

又は果汁に含まれるグルコースやフルクトースが0%になるまで発酵を行う。

- [0023] 本発明の細菌増殖抑制又は阻止剤に用いる、アセロラの果実から得られるピューレ又は果汁(以下、「アセロラ果汁等」と呼ぶ)は、使用する際、生(未加熱)のものを使用してもよいし、加熱殺菌したものを使用してもよい。実際には、未加熱のアセロラ果汁等、加熱処理したアセロラ果汁等のいずれも、同等の好熱性好酸性菌(TAB)の増殖抑制又は阻止能を有する。

本発明の細菌増殖抑制又は阻止剤に用いるアセロラ果汁等は、通常は、加熱したものを用いる。加熱処理は、例えば、70〜120℃で1秒〜20分間湯煎等の方法で行うことができる。

- [0024] 本発明の細菌増殖抑制又は阻止剤を添加する飲食品としては、特に限定されるものではないが、例えば、ジュース、清涼飲料水等の飲料、ゼリー、ヨーグルト、アイスクリーム等の食品が挙げられる。固形食品の場合、その製造工程において液状又は半固形状で加工するものである場合には、本発明の細菌増殖抑制又は阻止剤は、当該液状又は半固形状のときに添加する。液状又は半固形状の形態をとらない固形食品の場合には、TABによる問題が生じることはほぼない。

- [0025] 本発明の細菌増殖抑制又は阻止剤は、ピューレ又は果汁の形態の場合、飲食品中の最終濃度が、0.5〜100質量%の範囲で飲食品中に含まれることが好ましい。一方、乾燥させた固形分の形態をとる場合には、飲食品中の最終濃度が、0.05〜10質量%の範囲で飲食品中に含まれることが好ましい。

本発明の細菌増殖抑制又は阻止剤を果汁飲料・清涼飲料水に適用する場合には、飲料100重量部当たりアセロラ果汁又はピューレとして0.5〜100重量部、より好ましくは、2〜10重量部とする。一方、食品に適用する場合には、食品100重量部当たりアセロラ果汁又はピューレとして0.1〜20重量部、より好ましくは1〜10重量部とする。

- [0026] 本発明の細菌増殖抑制又は阻止剤は、アセロラ果汁等以外に、当該アセロラ果汁等の効果を消滅・低減しない限り、不活性担体、補助剤、及び抗菌物質のその他の物質を適切な濃度で添加することができる。

- [0027] 不活性担体としては、例えば、1)澱粉、マルトデキストリン、シクロデキストリン、焙焼

デキストリン、ショ糖、ブドウ糖、麦芽糖、乳糖等の糖類、2)カルボキシメチルセルロース、寒天、寒天分解物、カラギーナン、グルコマンナン、ローカストビーンガム、キサンタンガム等の増粘多糖類、3)小麦粉、米粉、コーンフラワー等の穀物粉、4)脱脂大豆、脱脂粉乳、トオモロコシ蛋白等の蛋白質、また、液状あるいはゲル上の場合には上記物質に加えて水、アルコール、酢酸等の常温、常圧で液状の物質を挙げることができる。

[0028] 補助剤としては、例えば、アジピン酸、プロピオン酸、プロピオン酸ナトリウム、プロピオン酸カルシウム、乳酸、乳酸ナトリウム、乳酸カルシウム、クエン酸、クエン酸三ナトリウム、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、コハク酸、コハク酸一ナトリウム、コハク酸二ナトリウム、フマル酸、フマル酸一ナトリウム、グルコン酸、グルコン酸ナトリウム、グルコン酸カルシウム、DL-酒石酸、L-酒石酸、DL-酒石酸ナトリウム、DL-リンゴ酸、D-L-リンゴ酸ナトリウム、安息香酸、安息香酸ナトリウム、グルコノデルタラクトン、炭酸塩類、二酸化炭素、亜硝酸塩、リン酸、リン酸塩類、重合リン酸塩類(ピロリン酸ナトリウム、トリポリリン酸ナトリウム、ヘキサメタリン酸塩等)、イタコン酸、フィチン酸等の各種酸および塩類。また、補助剤として各種抗酸化物質を加えることが出来る。例えば、アスコルビン酸、そのナトリウム、カリウム、カルシウム塩、脂肪酸エステル、エリソルビン酸、そのナトリウム、カリウム、カルシウム塩、脂肪酸エステル、 α -トコフェロール、 β -トコフェロール、 γ -トコフェロール、 δ -トコフェロール、 β -カロチン、カロテノイド、カテキン類、タンニン、フラボノイド、アントシアニン、ポリフェノール、BHT、2-BHA、3-BHA、ブチルヒドロキシアニソロール、尿酸、DHA、IPA、EPA、EDTA、グアヤク脂、クエン酸イソプロピル、ジブチルヒドロキシトルエン、ノルジヒドログアヤレチック酸、没食子酸プロピル、等の酸化防止剤を挙げることができる。

[0029] 抗菌物質としては、例えば、酢酸、酢酸ナトリウム、グリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、シュガーエステル、チアミンラウリル硫酸塩、デヒドロ酢酸ナトリウム、グリシン、プロタミン、ポリリジン、卵白リゾチーム、キトサン、エタノール、ワサビ抽出物、カラシ抽出物、グローブ抽出物、シナモン抽出物、セージ抽出物、ピメント抽出物、ペッパー抽出物、ローズマリー抽出物、オレガノ抽出物、ニンニク抽出物、イチジク葉抽出物、柑橘種子抽出物、桑抽出物、麴酸、シソ抽出物、ショウガ抽

出物、タデ抽出物、ホップ抽出物、生大豆抽出物、ブドウ果皮抽出物、ホッコシ抽出物、モウソウチク抽出物、モミガラ抽出物、プロポリス抽出物、甘草油性抽出物、オリーブ抽出物、ユッカフォーム抽出物、紅麴分解物、ペクチン分解物、茶タンニン、ヒノキチオール、コーヒー酸、ケイ皮酸、p-クマル酸、フェルラ酸、クロロゲン酸等のケイ皮酸同族体を挙げることができる。

[0030] 本発明の細菌増殖抑制又は阻止剤は、アセロラ果汁等と、必要に応じて他の任意成分とを混合し、さらに、必要に応じて殺菌、ろ過、濃縮等することにより製造することができる。

本発明の細菌増殖抑制又は阻止剤を用いた飲食品は、その飲食品に用いる通常の原料、及び本発明のアセロラ果汁等を用いた細菌増殖抑制又は阻止剤とを原料とし、常法に従って製造することができる。

[0031] 本実施形態におけるアセロラ果汁等を用いた好熱性好酸性菌(TAB)の細菌増殖抑制又は阻止剤は、天然物由来である。また、好熱性好酸性菌(TAB)の増殖抑制又は阻止に優れた効果を有する。

また、アセロラ果汁等は、細菌増殖抑制又は阻止剤に使用する際、酸性条件下で加熱殺菌しても細菌増殖抑制又は阻止能を維持できるので、飲食品、特に、果汁及び果汁飲料等の腐敗防止に、実用上都合がよい。また、特別な調製・操作が殆んど必要ないので、製造性・コストの点においても有利である。

このアセロラ果汁等を用いた好熱性好酸性菌(TAB)の細菌増殖抑制又は阻止剤は、果汁等の飲食品の保存料として用いることもできる。

実施例 1

[0032] 以下、本発明を実施例によって具体的に説明する。

アセロラ果汁の細菌増殖抑制・阻止効果

滅菌水洗浄したアセロラ果実843.3gのヘタを取り除いた後、121℃で、15分間高圧滅菌処理した晒しを用いて搾汁し、得られた搾り汁637.6gをアセロラ果汁液とした。その一部を80℃で、10分間、加熱処理し、加熱処理液とした。一方、アリシクロバチルス・アシドテレストリス(ATCC 49025)の株をYSG培地(酵母エキス0.2%、グルコース0.1%、可溶性デンプン0.2%、pH3.7)を用いて50℃で6～8時間、菌

の生育が対数生育期中後期(660nmにおける濁度が0.5ー0.6)に達するまで培養した菌液を、菌懸濁液とした。次いで、前記のように調製したアセロラ果汁液、加熱処理液をYSG培地に所定量加え(96穴、マイクロプレート;反応液量 1ウェル当たり 250 μ l)、菌懸濁液をおよそ 10^3 cfu/mlとなるように接種し、50℃で20時間培養した。その後、培養液中生存菌数をYSG寒天培地(1.5%寒天)を用いた混釈培養法により50℃、2日間培養し形成されたコロニーを計数した。

[0033] 本発明の実施に係り、菌の増殖阻害率は、次の数式に従って算出した。

増殖阻害率(%) = {1 - (生存菌数対数値 - 初期接種菌数の対数値) / (コントロールの菌数の対数値 - 初期接種菌数の対数値)} × 100

初期接種菌数及びコントロールの菌数は、それぞれ 3.4×10^2 cfu/ml、 5.0×10^7 cfu/mlとした。データは同時に測定した2回の平均値を取った。結果を図1に示す。

[0034] この結果から分かるように、アセロラ果汁の添加量が増えるに従って、増殖阻害率が上昇した。アセロラ果汁の添加量が50%(2倍希釈)以上では、生残菌数はほぼゼロになった。アセロラ果汁を80℃で10分加熱処理しても、この効果は同等であった。

実施例 2

[0035] アリシクロバシラス属細菌に対するアセロラ果汁の細菌増殖抑制・阻止効果

上記実施例と本質的に同様の実験を、下記の菌株に対して行い、アセロラ果汁(加熱処理・非加熱処理)の細菌増殖抑制・阻止能を調べた。

アリシクロバシラス・アシドカルダリウス(ATCC 27009)

アリシクロバシラス・シクロヘプタニカス(ATCC 49029)

アリシクロバシラス・ハーバリウス(DSM 13609)

アリシクロバシラス・ヘスペリダム(DSM 12489)

アリシクロバシラス・アシディフィラス(DSM 14558^T)

結果を図2ー図6に示した。

[0036] 図から明らかなとおり、アリシクロバシラス属の多く種の菌株に対して、アセロラ果汁は、細菌増殖抑制・阻止能を示した。

実施例 3

[0037] アセロラ果汁固形分の調製

ブラジル産のアセロラ果実1kgを搾汁し、果汁と残渣とに分けた。1リットルの蒸留水で、残渣を洗浄し、この洗浄液と果汁とを混合し、凍結乾燥にかけた。80.4gの粉末を得た。この粉末を以後、「アセロラ果汁固形分」と呼ぶ。アセロラ果汁固形分の成分分析結果は下記の通りであった。

グルコース:26.4%

フルクトース:29.7%

ビタミンC:22.3%

リンゴ酸:10.5%

総ポリフェノール0.71%

尚、総ポリフェノール含量は、Folin-Denis法により測定した。

[0038] アセロラ果汁固形分の細菌増殖抑制実験

上記で調製したアセロラ果汁固形分を、蒸留水により溶解し、濃度を0.2、0.4、1.0、2.0%とした水溶液各3mlをL字培養管に注入した。次いで、対数増殖期にあるアリシクロバチルス・アシドテレストリス(*A. acidoterrestris*; ATCC49025)を、2×濃度のYSG液体培地に接種し、攪拌した。攪拌後、この接種液3mlを、上記のアセロラ果汁固形分を種々の濃度で含む、それぞれのL字培養管に添加し、6ml/本とした。これらを水平静置培養方法により、50℃、20時間曝露試験を行った。その後、YSG寒天培地(寒天1.5%+YSG培地)を用いた混釈平板寒天培養法により、50℃、2日間の培養を行った。培養後、形成されたコロニー数を計測し、その結果をコントロール(アセロラ果汁固形分の水溶液の代わりに蒸留水を添加したもの)と比較し、図7に示した。アセロラ果汁固形分の最終濃度が0.2%(2mg/ml)以上のときに、細菌の増殖を完全に阻止できた。最終濃度が0.1%の場合には、細菌の増殖を抑制することが判った。

実施例 4

[0039] リンゴ果汁中でのアセロラ果汁固形分の細菌増殖抑制実験

アセロラ果汁固形分を、蒸留水により溶解し、濃度を0.02、0.04、0.08、0.12、0.16、0.2%とした水溶液各3mlをL字培養管に注入した。次いで、2×濃度のYSG液体培地

の代わりに、70%濃度のリンゴ果汁を用いる以外は、上記実施例3と同様の条件で、*A. acidoterrestris*の増殖抑制実験を行った。結果を、図8に示す。この図から明らかなように、アセロラ果汁固形分の濃度に比例して、抗菌活性が現われ、最終濃度が、0.1% (1mg/ml) で増殖を抑制した。

実施例 5

[0040] 種々の果汁中でのアセロラ果汁固形分の細菌増殖抑制実験

2×濃度のYSG液体培地の代わりに、70%濃度の、リンゴ果汁、パイナップル果汁、オレンジ果汁、バナナ果汁、及びライチ果汁を用い、アセロラ果汁固形分の最終濃度を1mg/mlとする以外は、上記実施例3と同様の条件で、*A. acidoterrestris*の増殖抑制実験を行った。結果を、図9に示す。この図から明らかなように、何れの種類の果汁の場合にも、アセロラ果汁固形分濃度が1mg/mlで、*A. acidoterrestris*の増殖抑制効果が観察された。

実施例 6

[0041] アセロラ果汁の脱糖処理

ブラジル産のアセロラ果実を搾汁して、400mlのアセロラ果汁を調製した。この果汁をBrix値が20〜30%になるようにエバポレータで濃縮した。この濃縮果汁に、2%濃度の酵母 (*S. cerevisiae*) を添加して、30℃で20時間発酵させた。発酵後、発酵溶液を遠心分離及びろ過にかけ、その上清を凍結乾燥することにより、15.9gの乾燥粉末を得た。この粉末を成分分析にかけた。その結果は以下のとおりであった。

グルコース:0%

フルクトース:0%

ビタミンC:38.6%

総ポリフェノール:1.18%

尚、総ポリフェノール含量は、Folin-Denis法により測定した。

実施例 7

[0042] 脱糖処理したアセロラ果汁固形分の細菌増殖抑制実験

上記実施例6で調製した脱糖処理済アセロラ果汁の乾燥固形分を、蒸留水により溶解し、濃度を0.2、0.4、1.0、2.0%とした水溶液を用いる以外は、実施例2と同

様にして細菌増殖抑制実験を行った。結果を図10に示す。脱糖処理済アセロラ果汁固形分は、非脱糖処理のものと同様に、2mg/mlの濃度で、菌の増殖を完全に阻止した。

実施例 8

[0043] アセロラ果汁含有飲料(ミックスジュース)の製造

アセロラ果汁、リンゴ果汁、パイナップル果汁を調合タンクに投入し、次に以下の割合で果糖ブドウ糖液糖、酸味料(クエン酸、クエン酸ナトリウム、リンゴ酸)をイオン交換水にて溶解した後、上記調合タンクに同様に投入した。その後、イオン交換水を所定量まで投入し、攪拌により全体を均一化した。こうして得られた製品を、プレート式熱交換器などで90℃5秒程度の条件で高温短時間殺菌後、ペットボトルに熱間充填した後にすみやかに冷却し、実施品1を製造した。また、比較として、アセロラ果汁を配合しない以外は上記と同様にして比較品1を製造した。

[0044] (配合)

アセロラ果汁: 10%
リンゴ果汁: 20%
パイナップル果汁: 5%
果糖ぶどう糖液糖: 9%
クエン酸: 0.1%
クエン酸ナトリウム: 0.05%
リンゴ酸: 0.1%
イオン交換水: 55.75%
(%表記はすべて重量%)

[0045] こうして得られた各飲料について、まず、専門パネラー10名で官能評価し、風味を比較した。その結果、風味は実施品1の方が比較品1よりも非常に良好であった。次に、各飲料におけるアリシクロバチルス・アシドテレストリスの増殖度合を調べた。すなわち、実施品1及び比較品1それぞれにアリシクロバチルス・アシドテレストリスを接種して、50℃、24時間静置した後、YSG寒天培地を用いた混釈平板寒天培養法により、生菌数を測定した。その結果、比較品1ではアリシクロバチルス・アシドテレストリスの

増殖が認められたが、実施品1では増殖を完全に抑制できた。また、実施品1は10℃、4週間の静置保存後も沈殿、分離等は見られず、且つ良好な風味を維持し、さらにアリシクロバチルス・アシドテレストリスに対する増殖抑制作用も低下することはなかった。

実施例 9

[0046] アセロラ果汁含有カップゼリーの製造

攪拌機付ジャケットニーダー式調合タンクにイオン交換水を適当量投入し加温した。その後、イオン交換水に溶解したクエン酸ナトリウム及びグラニュー糖、加温したイオン交換水に高速攪拌タンクを用いて均一に分散させた市販のゲル化剤（三栄源FFI社製）、リンゴ果汁、パイナップル果汁、アセロラ果汁を順次上記調合タンクに投入した。次に、酸味料（クエン酸、リンゴ酸）をイオン交換水にて溶解した後、同様に調合タンクに投入した。その後、イオン交換水を所定量まで投入し、攪拌により均一化し、80℃まで加温し10分間攪拌した。こうしてできた製品を、カップ充填機を用いて適宜ゼリー用の容器にホットパックした。最後に、80℃の温水に30分間浸漬させ、容器を含めた加熱殺菌を行って実施品2を製造した。また、アセロラ果汁を配合しない以外は上記と同じ方法で製造し、比較品2とした。

[0047] (配合)

アセロラ果汁:	10%
リンゴ果汁:	20%
パイナップル果汁:	5%
グラニュー糖:	15%
クエン酸:	0.1%
クエン酸ナトリウム:	0.05%
リンゴ酸:	0.1%
ゲル化剤:	1.2%
イオン交換水:	49.15%
(%表記はすべて重量%)	

[0048] こうして得られた各カップゼリーについて、まず、専門パネラー10名で官能評価し、

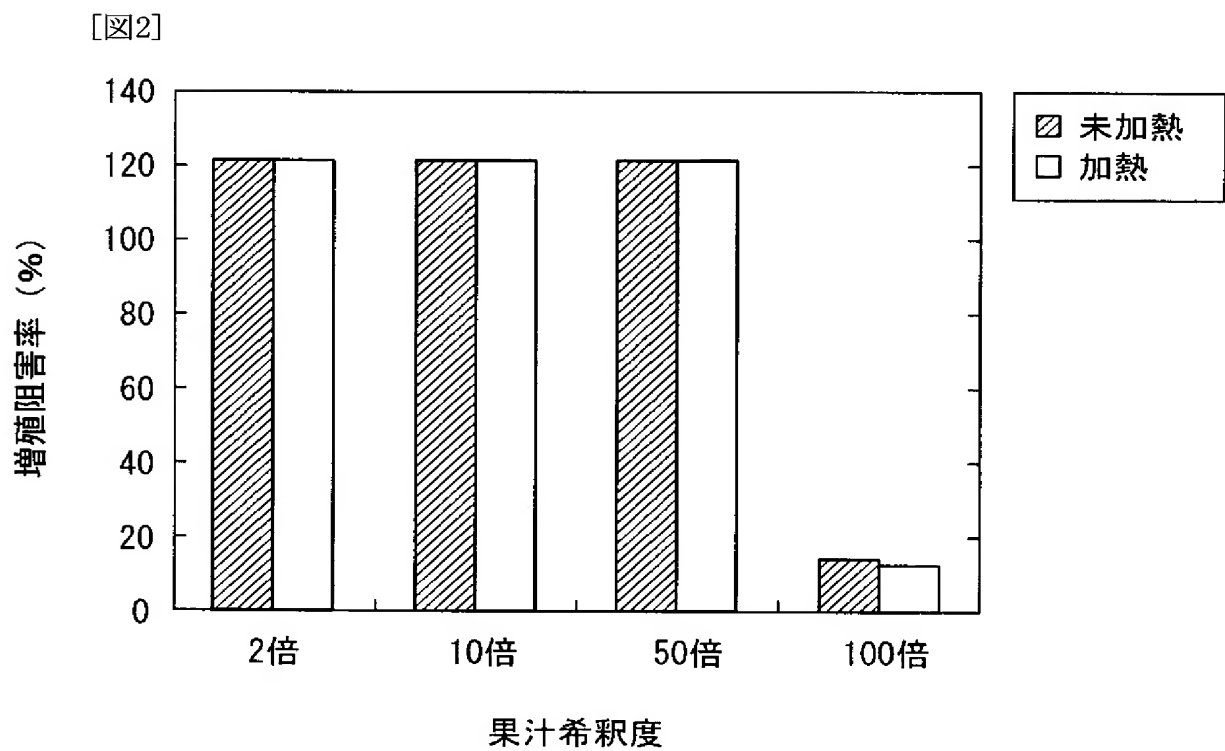
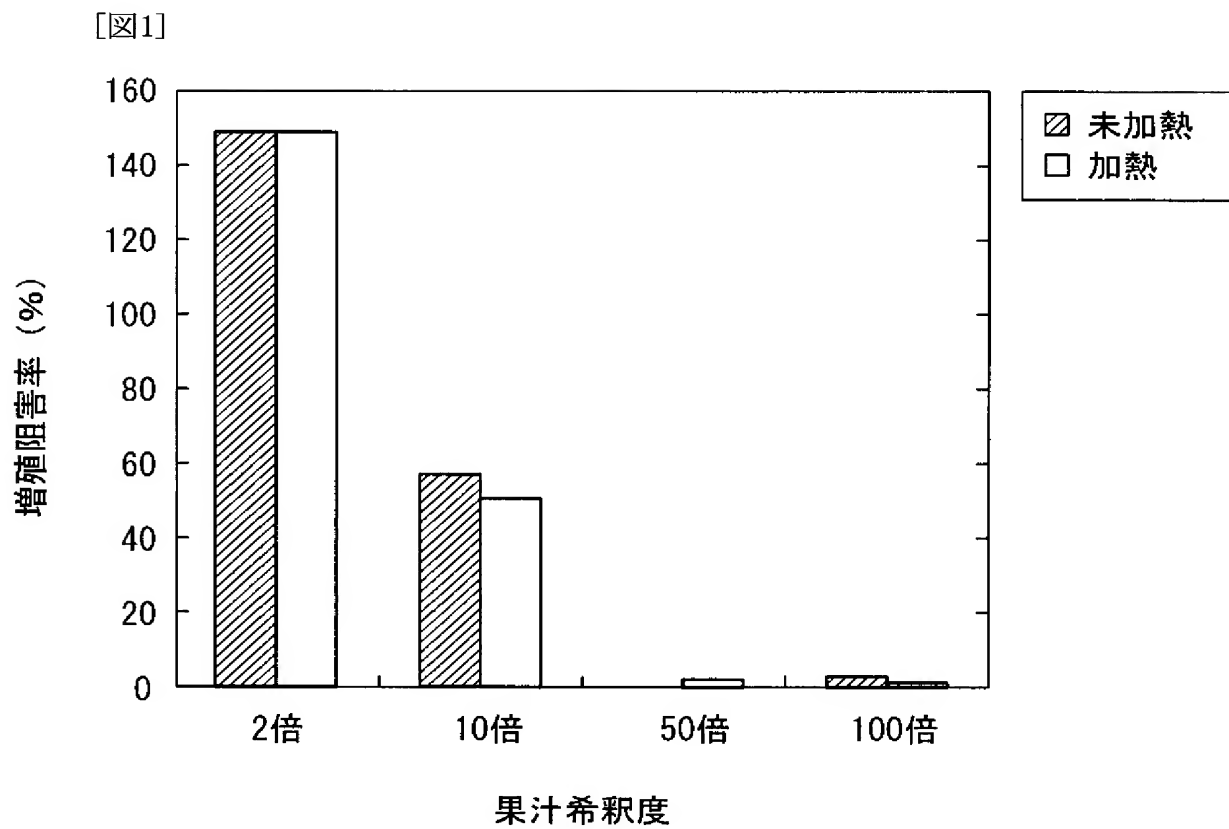
風味を比較した。その結果、風味は実施品2の方が比較品2よりも非常に良好であった。次に、各カップゼリーにおけるアリシクロバチルス・アシドテレストリスの増殖度合を調べた。すなわち、実施品2及び比較品2それぞれにアリシクロバチルス・アシドテレストリスを接種して、50℃、24時間静置した後、YSG寒天培地を用いた混釈平板寒天培養法により、生菌数を測定した。その結果、比較品2ではアリシクロバチルス・アシドテレストリスの増殖が認められたが、実施品2では増殖を完全に抑制できた。また、実施品2は10℃、4週間の静置保存後も分離等は見られず、安定な物性を保ち、且つ良好な風味を維持し、さらにアリシクロバチルス・アシドテレストリスに対する増殖抑制作用も飲料の場合と同様に低下しなかった。

産業上の利用可能性

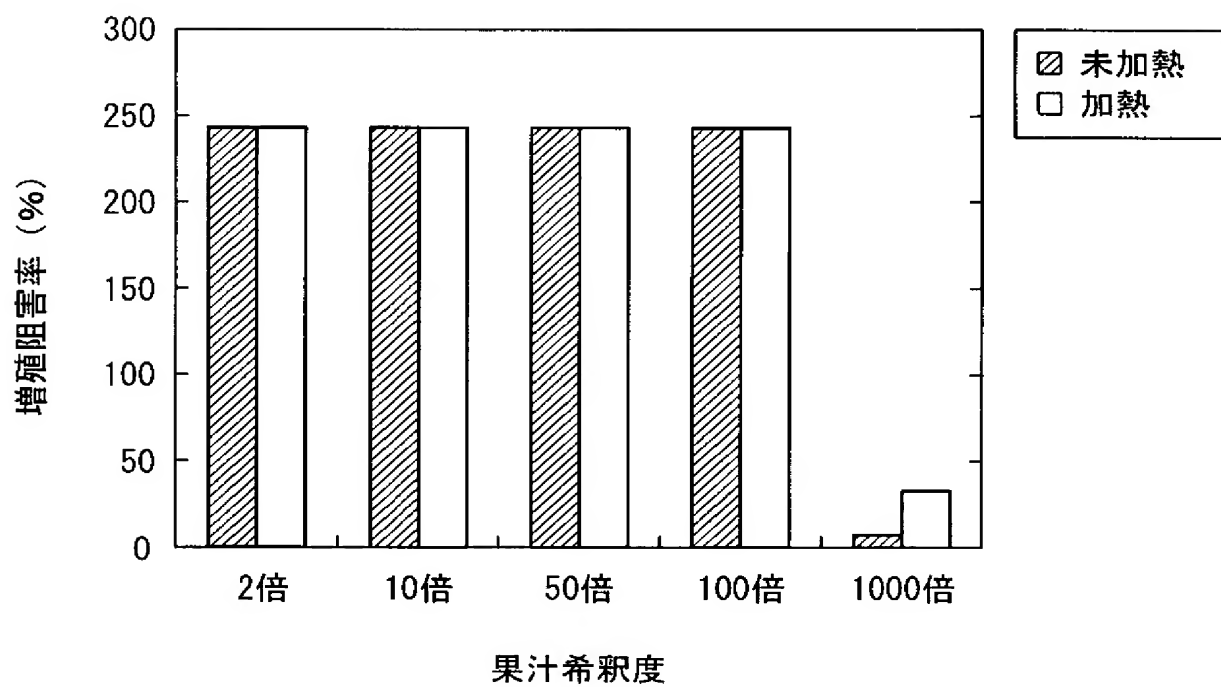
[0049] 本発明の細菌増殖抑制又は阻止剤は、果汁飲料等の食品に利用することができる。

請求の範囲

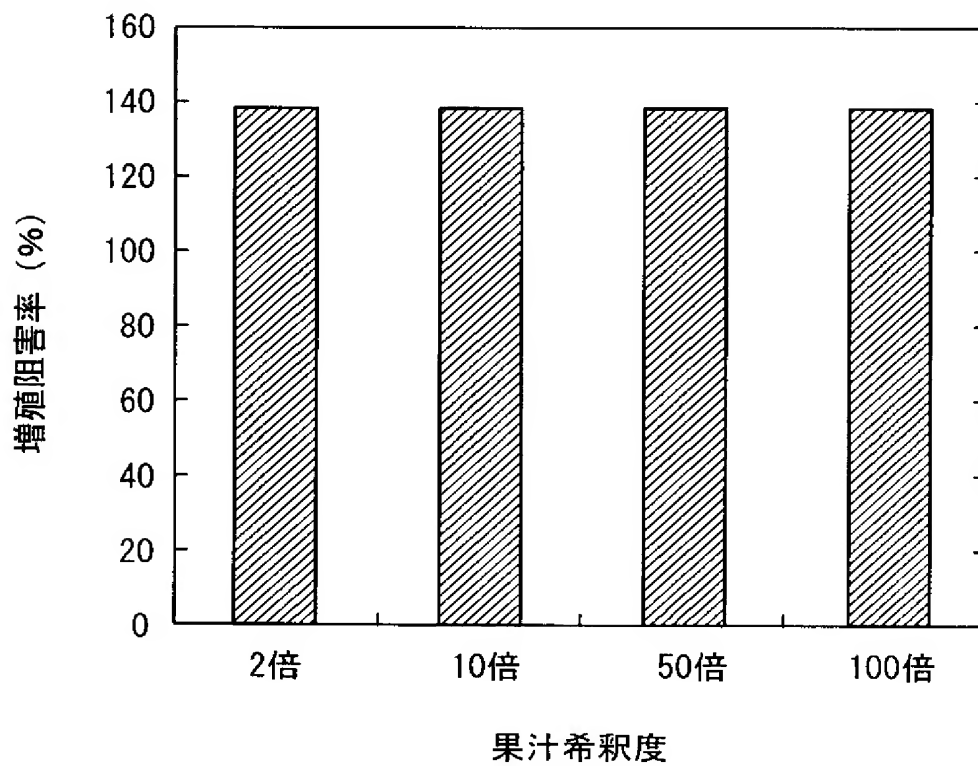
- [1] アセロラ (*Malpighia emerginata* DC.) の果実から得られるピューレ又は果汁を有効成分として含む、好熱性好酸性細菌 (TAB: Thermo Acidophillic Bacilli) の細菌増殖抑制又は阻止剤。
- [2] 前記アセロラの果実から得られるピューレ又は果汁を乾燥させたものを有効成分として含む、請求項1に記載の好熱性好酸性細菌 (TAB) の細菌増殖抑制又は阻止剤。
- [3] 前記アセロラの果実から得られるピューレ又は果汁が、脱糖処理にかけられたものである、請求項1又は2に記載の好熱性好酸性細菌 (TAB) の細菌増殖抑制又は阻止剤。
- [4] 前記好熱性好酸性細菌 (TAB) が、アリシクロバチルス (*Alicyclobacillus*) 属細菌である、請求項1乃至3の何れか一項に記載の細菌増殖抑制又は阻止剤。
- [5] 前記アリシクロバチルス属細菌がアリシクロバチルス・アシドテレストリス (*Alicyclobacillus acidoterrestris*)、アリシクロバチラス・アシディフィラス (*Alycyclobacillus acidiphilus*)、又はアリシクロバチラス・ハーバリウス (*Alicyclobacillus herbarius*) である、請求項4に記載の細菌増殖抑制又は阻止剤。
- [6] 飲食品添加用である請求項1乃至5の何れか一項に記載の細菌増殖抑制又は阻止剤。
- [7] 請求項6に記載の細菌増殖抑制又は阻止剤を含む、飲食品。
- [8] アセロラの果実から得られるピューレ又は果汁、これらの脱糖処理物、又はこれらの乾燥物の、細菌増殖抑制又は阻止のための使用。
- [9] 請求項6に記載の細菌増殖抑制又は阻止剤を添加する工程を含む、飲食品の製造方法。
- [10] 請求項6に記載の細菌増殖抑制又は阻止剤を飲食品に添加する工程を含む、飲食品における細菌増殖の抑制又は阻止方法。



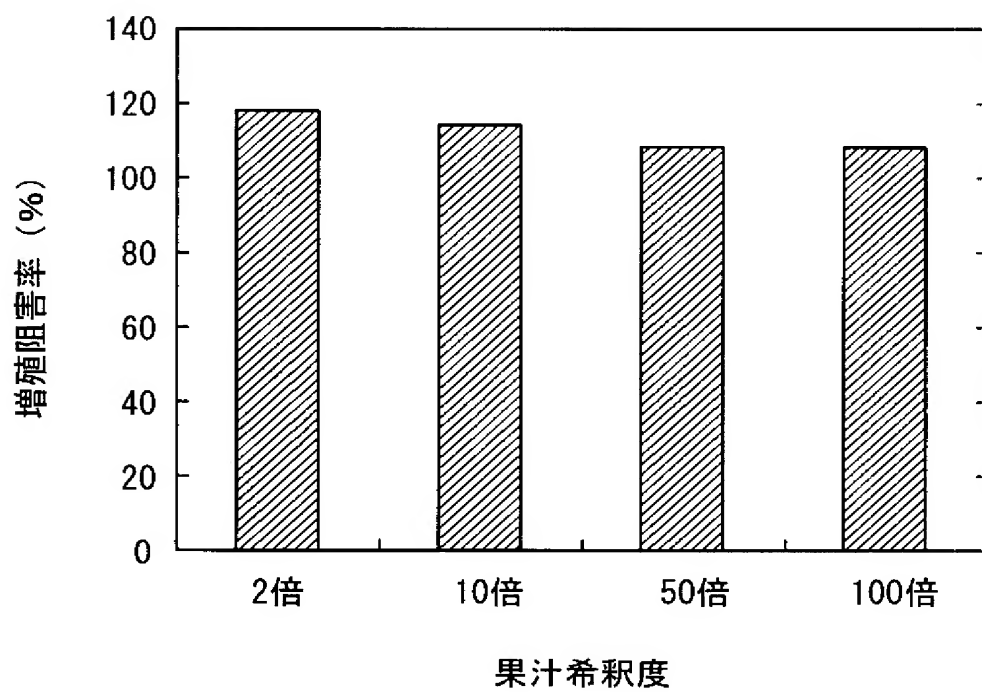
[図3]



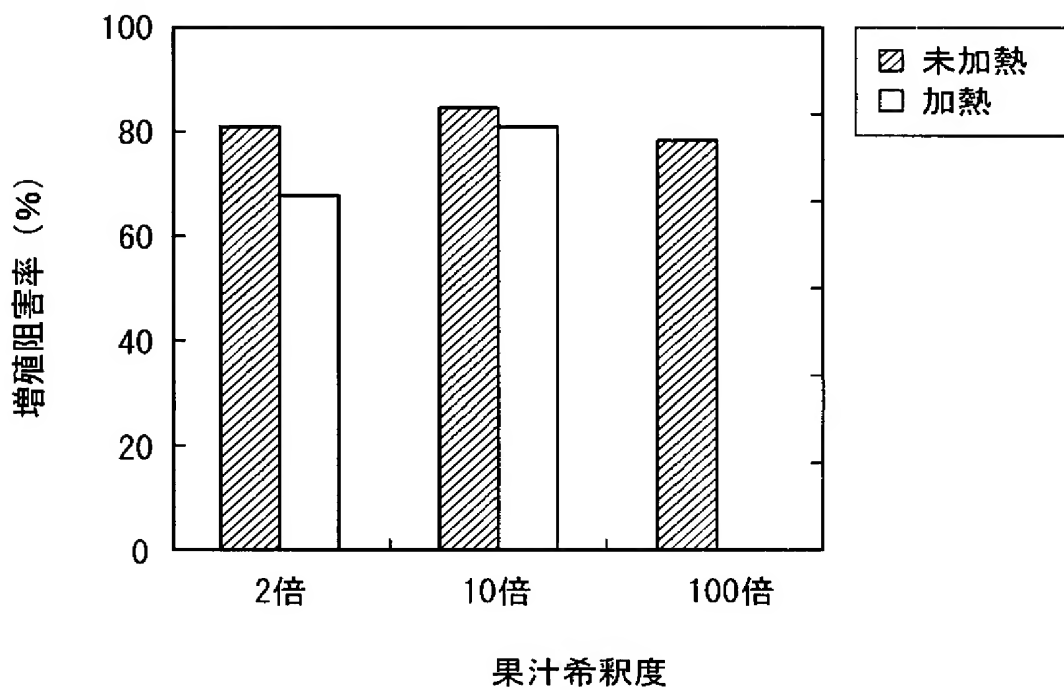
[図4]



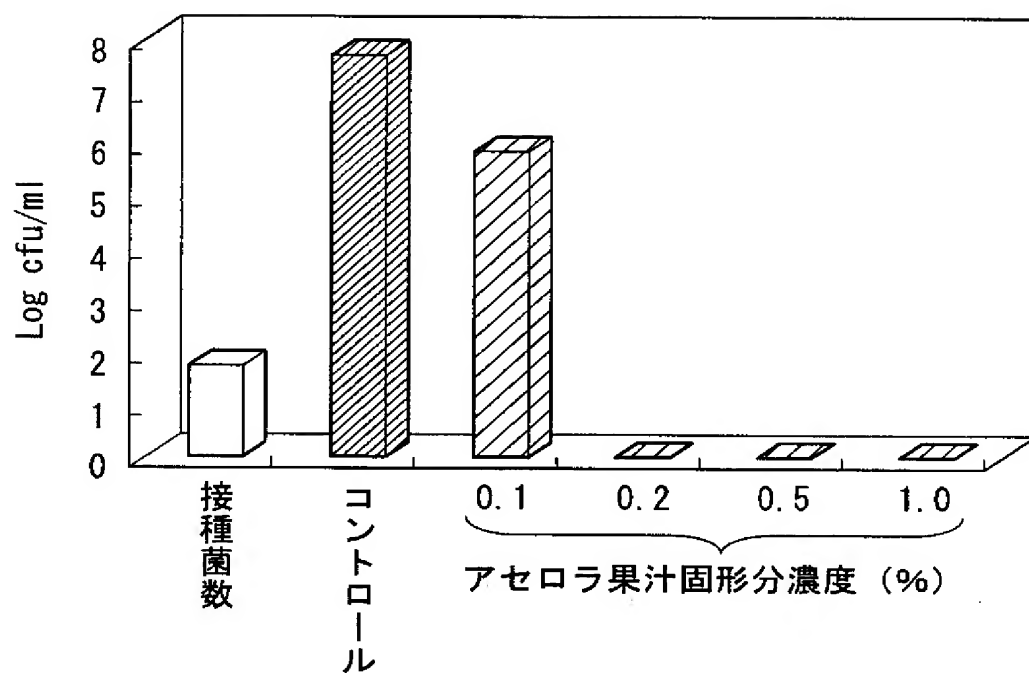
[図5]



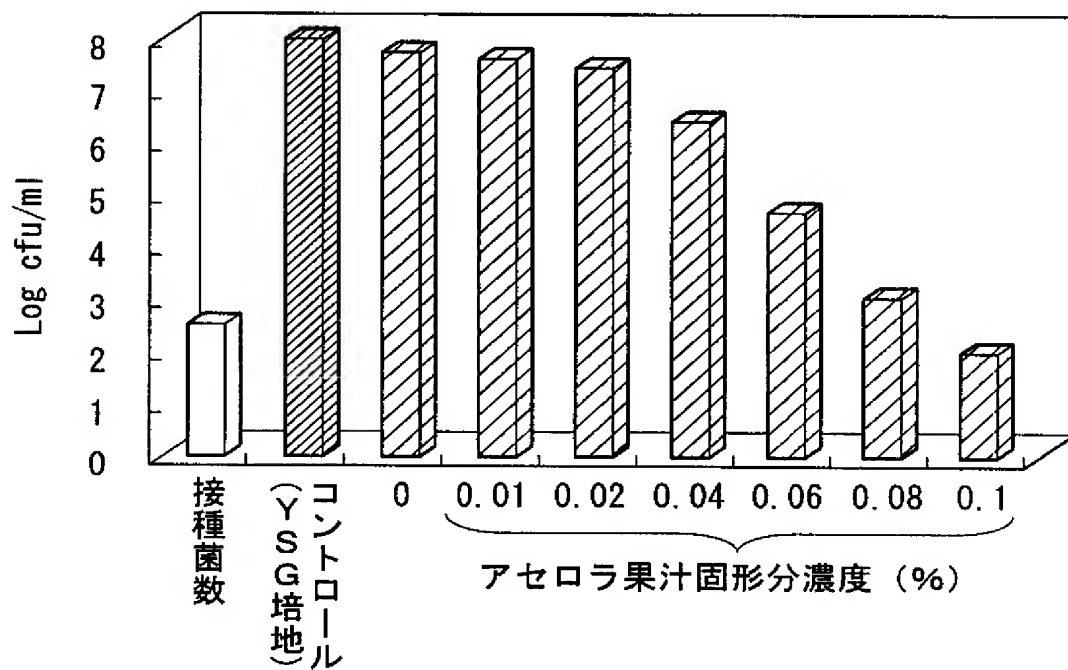
[図6]



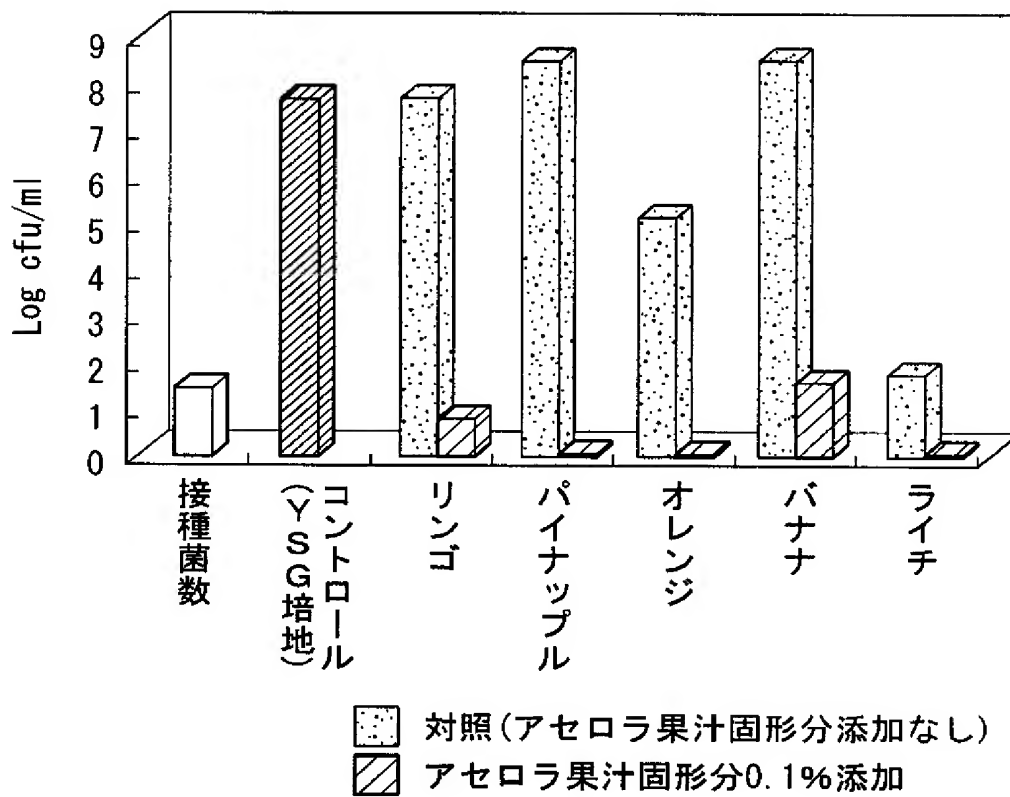
[図7]



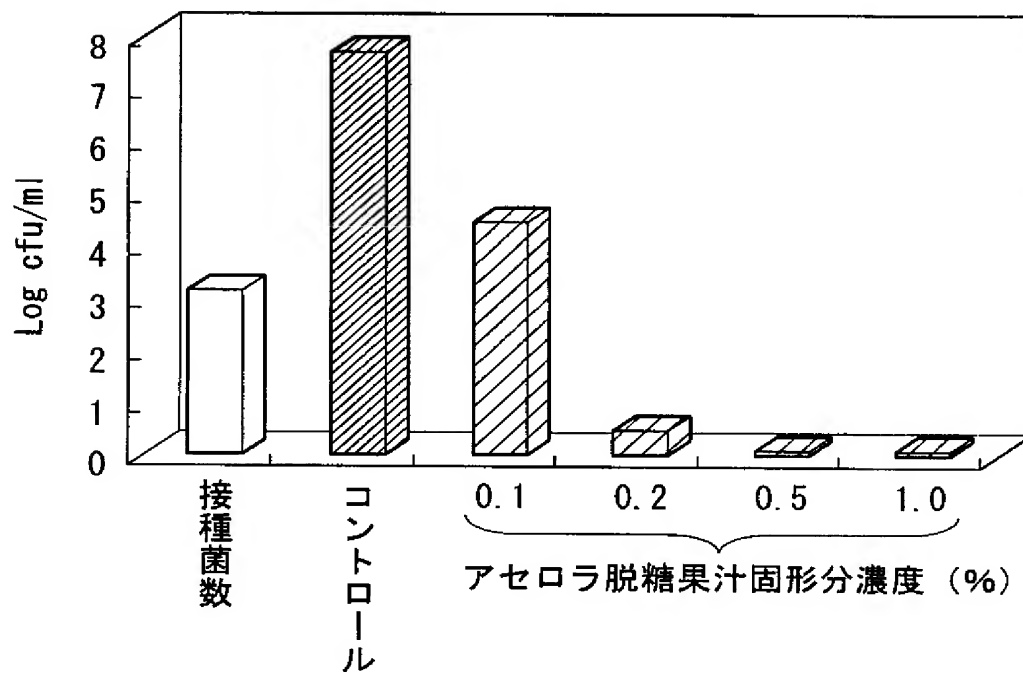
[図8]



[図9]



[図10]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/018482

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ A01N65/00, A23L1/068, 2/02, 3/3472

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ A01N65/00, A23L1/068, 2/02, 3/3472

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Supervised by Shadan Hojin Nippon Kaju Kyokai, 'Saishin Kaju' Kajitsu Inryo Jiten', Kabushiki Kaisha Asakura Shoten, 01 October, 1997 (01.10.97), 1st edition, 1st print, pages 182 to 183	1,4-10
X	JP 2001-128651 A (Asahi Soft Drinks Co., Ltd.), 15 May, 2001 (15.05.01), Full text (Family: none)	1,4-10
X	JP 5-344846 A (Snow Brand Milk Products Co., Ltd.), 27 December, 1993 (27.12.93), Full text (Family: none)	1,4-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
28 December, 2004 (28.12.04)

Date of mailing of the international search report
25 January, 2005 (25.01.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/018482

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 62-208236 A (Kishu Yakushi Ume Kabushiki Kaisha), 12 September, 1987 (12.09.87), Full text (Family: none)	1, 2, 4-10
X	JP 2000-4768 A (Riken Vitamin Co., Ltd.), 11 January, 2000 (11.01.00), Full text (Family: none)	1, 2, 4-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ A01N65/00, A23L1/068, 2/02, 3/3472

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ A01N65/00, A23L1/068, 2/02, 3/3472

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	社団法人日本果汁協会監修「最新 果汁・果実飲料事典」株式会社朝倉書店、1997年10月1日、初版第1刷、第182-183頁	1, 4-10
X	JP 2001-128651 A (アサヒ飲料株式会社) 2001.05.15 全文 (ファミリーなし)	1, 4-10
X	JP 5-344846 A (雪印乳業株式会社) 1993.12.27 全文 (ファミリーなし)	1, 4-10

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28.12.2004

国際調査報告の発送日

25.1.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

吉住 和之

4H

9165

電話番号 03-3581-1101 内線 3443

様式PCT/ISA/210 (第2ページの続き) (2004年1月)